

Pengaruh Pemberian Filtrat Daun Sambiloto terhadap Jumlah Leukosit Darah Tikus Putih yang Terpapar Benzena

Khumairoh, Tjandrakirana, Widowati Budijastuti

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

ABSTRAK

Benzena merupakan bahan kimia yang sering mencemari lingkungan dan bersifat leukomogen kuat. Salah satu gangguannya menurunkan jumlah leukosit, karena menyerang enzim *topoisomerase II* dalam sumsum tulang. Sambiloto suatu bahan alami yang mengandung senyawa *deoxyandrographolid*, *14-deoxy-11*, *neoandrographolid*, *12-didehydroandrographolide*, *homoandrographolide*, diterpenoid dan flavonoid yang bertindak sebagai immunostimulan. Berdasarkan latar belakang tersebut dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuktikan bahwa filtrat daun sambiloto dapat meningkatkan jumlah leukosit akibat terpapar benzena secara inhalasi. Subjek 25 tikus jantan strain Wistar yang dikelompokkan menjadi lima, yaitu kelompok kontrol normal (K_0), kontrol terpapar benzena (K_1), terpapar benzena yang diberi filtrat sambiloto 0,15 ml (P_1), terpapar benzena yang diberi filtrat daun sambiloto 0,3 ml (P_2) dan terpapar benzena yang diberi filtrat daun sambiloto 0,45 ml (P_3). Paparan benzena selama 6 jam/hari dalam 6 hari dan pemberian filtrat daun sambiloto selama 7 hari. Penghitungan jumlah leukosit menggunakan Haemocytometer. Analisis data dengan anava satu arah dan BNT pada taraf uji 5%. Hasil penelitian K_1 mengalami penurunan menjadi 3063 sel/mm³ ($t_{hit}(2,149) > t_{tab}(2,02)$), P_1 meningkat menjadi 6873 sel/mm³ ($t_{hit}(2,709) > t_{tab}(2,02)$); P_2 7627 sel/mm³ ($t_{hit}(2,420) > t_{tab}(2,02)$); P_3 8803 sel/mm³ ($t_{hit}(2,124) > t_{tab}(2,02)$). Hasil analisis menunjukkan filtrat daun sambiloto dapat meningkatkan jumlah leukosit ($F_{hit}(648,18) > F_{tab}(2,87)$; BNT (222,23). Simpulan penelitian ini bahwa filtrat daun sambiloto dapat meningkatkan jumlah leukosit yang terpapar benzena.

Kata kunci: filtrat sambiloto (*Andrographis paniculata*); jumlah leukosit; benzena

ABSTRACT

Benzene is a pollutant chemical environment and leukomogen factor. One's of the effect is decrease leukocytes concentration because benzene can attack the enzyme *topoisomerase II* in the bone marrow. The composition of *Andrographis paniculata* are *deoxyndragrapholid*, *andrographolid*, *14-deoxy-11*, *neoandrogapholid*, *12-didehydroandrographolide*, *homoandrographolide*, diterpenoid, and flavonoid, and the function is immunostimulan. This research aimed to prove that *Andrographis paniculata* leaf filtrate can increase leukocytes concentration caused inhalation exposure benzene. This subject are 25 Wistar strain male rats were divided into five groups; normal control (K_0), benzene exposure control (K_1), benzene exposure+*Andrographis paniculata* leaf filtrate 0,15 ml (P_1), benzene exposure+*Andrographis paniculata* leaf filtrate 0,3 ml (P_2) and benzene exposure+*Andrographis paniculata* leaf filtrate 0,45 ml (P_3). Exposure benzene for 6 hours per day on 6 days and giving *Andrographis paniculata* leaf filtrate for 7 days. Counting leukocytes concentration uses a haemocytometer. Analysis of the data with One-Way ANOVA and LCD at 5 % level test. The result K_1 decreased to 3063 cells/mm³ ($t_{hit}(2,149) > t_{tab}(2,02)$), P_1 increased to 6873 cells/mm³ ($t_{hit}(2,709) > t_{tab}(2,02)$); P_2 7627 cells/mm³ ($t_{hit}(2,420) > t_{tab}(2,02)$); P_3 8803 cells/mm³ ($t_{hit}(2,124) > t_{tab}(2,02)$). The analysis revealed *Andrographis paniculata* leaf filtrate can increase leukocytes concentration ($F_{hit}(648,18) > F_{tab}(2,87)$, LSD (222,23). The conclusion of this research that *Andrographis paniculata* leaf filtrate can increase leukocytes level benzene exposure.

Key words: Sambiloto Filtrate (*Andrographis paniculata*); leucocytes level; benzene

PENDAHULUAN

Benzena merupakan bahan yang sering mencemari lingkungan (Putra, 2003 dalam Maulana, 2009). Hirabayashi *et al.* (2004) menerangkan bahwa benzena merupakan leukomogen kuat yang dapat mengganggu proses hematopoiesis karena benzena dapat menyerang enzim *topoisomerase II* dalam sumsum tulang. Enzim tersebut akan berinteraksi dengan DNA selama tahap replikasi dan transkripsi ini

terhambat sehingga akan mengakibatkan kerusakan pada kromosom.

Yusron *et al.* (2004) menuliskan salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat di kalangan masyarakat adalah tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*). Menurut Muhlisah (2006) sambiloto mengandung *deoxyandrographolide*, *andrographolide*, *14-deoxy-11*, *neoandrographolide*, *12-didehydroandrographolide*, *homoandrographolide*, diterpenoid dan flavonoid yang bertindak sebagai

immunostimulan. Untuk membuktikan bahwa filtrat daun sambiloto (*Andropogon paniculata*) dapat meningkatkan jumlah leukosit akibat paparan benzena sehingga dilakukan penelitian dengan menggunakan hewan uji tikus putih jantan.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimen. Sasaran penelitian adalah jumlah leukosit darah tikus putih. Variabel bebas penelitian ini ialah dosis filtrat daun sambiloto, Variabel respons jumlah leukosit darah tikus putih, Variabel kontrol meliputi dosis benzena, jenis, umur, berat badan dan jumlah tikus pada tiap perlakuan, lama perlakuan, ukuran kandang, dan banyaknya makanan. Rancangan penelitian yang dipakai adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan lima kali ulangan.

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah alat pemeliharaan tikus putih, alat pembuatan filtrat sambiloto, alat penentuan dosis filtrat daun sambiloto, alat pemberian benzena, alat pemberian filtrat daun sambiloto, alat pengambilan sampel dan pengukuran jumlah leukosit darah.

Bahan yang diperlukan untuk penelitian ini ialah daun tanaman sambiloto, pakan, air ledeng, serbuk gergaji kayu, benzena, kapas, larutan turk, darah tikus putih, akuades, alkohol 76%, betadin dan antibiotik.

Prosedur penelitian ini meliputi persiapan hewan percobaan, pembuatan filtrat daun sambiloto, penentuan dosis filtrat daun sambiloto, penghitungan jumlah leukosit awal, penghitungan jumlah leukosit darah tikus putih setelah terpapar benzena, perlakuan, pengambilan

sampel darah dan penghitungan jumlah leukosit darah tikus. Data diperoleh dengan melihat jumlah leukosit dengan menggunakan *Haemocytometer*. Hasil penghitungan jumlah leukosit darah diperoleh data yang berskala ordinal. Selanjutnya, dilanjutkan dengan uji parametrik, yaitu anava satu arah.

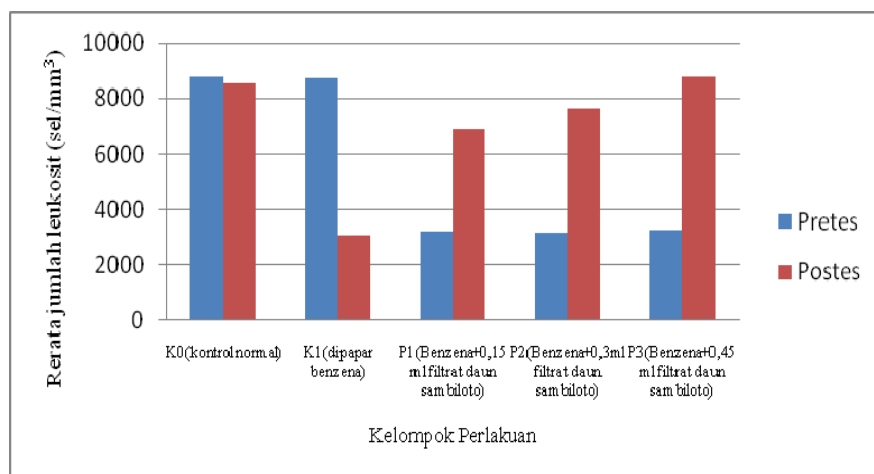
HASIL

Setelah dilakukan percobaan, diperoleh data dari lima kelompok perlakuan dengan pengambilan data dua kali. Setelah diberi paparan benzena, rerata jumlah leukosit mengalami penurunan dan setelah diberi filtrat daun sambiloto, rerata jumlah leukosit cenderung mengalami peningkatan (Tabel 1, Gambar 1).

Tabel 1. Rerata jumlah leukosit sebelum diberi paparan benzena

Kelompok perlakuan	Rerata jumlah leukosit (sel/mm ³)	
	Pretes	Postes
K ₀ (kontrol normal)	8800	8536
K ₁ (dipapar benzena 0,3 ml)	8750	3063
P ₁ (Benzena + 0,15 ml filtrat daun sambiloto)	3200	6873
P ₂ (Benzena + 0,3 ml filtrat daun sambiloto)	3160	7627
P ₃ (Benzena + 0,45 ml filtrat daun sambiloto)	3240	8803

Semua data diuji normalitasnya menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, ternyata data berdistribusi normal sehingga statistik yang digunakan adalah statistik parametrik yaitu anava satu arah dengan taraf uji 0,05.



Gambar 1. Diagram jumlah leukosit darah tikus putih pemberian benzene dan filtrat sambiloto dengan berbagai konsentrasi

Berdasarkan hasil uji t yang telah dilakukan didapatkan bahwa pada kelompok K1 $t_{hit} (2,149) > t_{tab} (2,02)$, P1 $t_{hit} (2,709) > t_{tab} (2,02)$, P2 $t_{hit} (2,420) > t_{tab} (2,02)$, P3 $t_{hit} (2,124) > t_{tab} (2,02)$, sehingga pada keempat kelompok perlakuan terdapat perbedaan.

Hasil uji anava perhitungan jumlah leukosit sesudah diberi paparan benzena dan filtrat sambiloto menunjukkan hasil yang signifikan, sebab $F_{hit} (648,18) > F_{tab} (2,87)$ sehingga hipotesis bahwa filtrat sambiloto dapat meningkatkan jumlah leukosit darah tikus putih yang terpapar benzena diterima. Uji BNT jumlah leukosit darah tikus putih setelah diberi perlakuan didapatkan bahwa pada setiap kelompok perlakuan berbeda nyata.

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian ini, pada pengamatan K_0 rerata jumlah leukosit tidak mengalami perubahan (8679 sel/mm^3). Hal ini dikarenakan pada K_0 tidak diberi perlakuan apapun.

Pada K1 penghitungan awal rerata jumlah leukositnya sama dengan K_0 (8679 sel/mm^3), akan tetapi pada penghitungan kedua rerata jumlah leukositnya mengalami penurunan sebesar (3155 sel/mm^3). Hal ini dikarenakan pada K1 dipapar benzena. Menurut Hirabayashi *et al.* (2004) benzena merupakan leukomogen kuat yang dapat menurunkan jumlah leukosit. Rizky (2011) menyatakan toksikokinetika benzena dimulai dari absorpsi ke dalam tubuh, interaksi biokimia dan jalur metabolisme, distribusi dan eliminasi dari tubuh. Jika individu terpapar benzena di udara dalam konsentrasi tinggi separuh kadar benzena yang terabsorpsi masuk ke dalam paru-paru kemudian masuk ke aliran darah. Melalui pembuluh darah, benzena kemudian disimpan dalam sumsum tulang dan dalam jaringan lemak. Benzena dikonversi menjadi metabolit dalam hati dan sumsum tulang.

Selain itu Hirabayashi *et al.* (2004) juga menyatakan bahwa adanya benzena dapat mengganggu proses hematopoiesis karena benzena dapat menyerang enzim topoisomerase II yang ada pada sumsum tulang. Enzim topoisomerase II sendiri akan berinteraksi dengan DNA, jika DNA bermasalah maka tahap replikasi dan transkripsi juga terhambat sehingga akan mengakibatkan kerusakan pada kromosom, yang pada akhirnya akan menyebabkan penyakit darah karena proses apoptosis. Apabila sumsum tulang terganggu maka proses pembentukan darah, salah satunya leukosit akan terganggu juga.

Pudyoko (2010) juga menyatakan bahwa pada keadaan normal, 75% dari sel di dalam

sumsum tulang termasuk dalam golongan *mieloid* penghasil sel darah putih. Sumsum tulang mengandung sel induk multipoten umum yang akan berdiferensiasi menjadi sel induk khusus, yang selanjutnya berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel yang ditemukan di dalam sumsum tulang dan darah. Sel-sel tersebut berkembang menjadi kelompok-kelompok sel induk khusus yang membentuk megakariosit, limfosit, eritrosit, eosinofil dan basofil, sedangkan neutrofil dan monosit dibentuk oleh prekursor umum. Sel induk pada sumsum tulang juga merupakan sumber dari osteoklas, sel mast, sel dendritik dan sel langerhans.

Dalam penelitiannya Pudyoko (2010) menambahkan bahwa benzena juga menunjukkan efek yang buruk terhadap sistem imunologis pada manusia pada saat terpapar benzena melalui saluran pernapasan pada durasi sedang dan kronis. Efek buruk ini merusak sistem antibodi dan respons selular (leukosit). Penelitian yang lain juga menunjukkan bahwa terjadi penurunan limfosit manusia dan komponen-komponen darah setelah terpapar, efek ini dapat dilihat pada tingkat paparan lingkungan kerja pada konsentrasi 1 ppm atau malah lebih rendah.

Apabila jumlah leukosit berkurang maka akan memengaruhi semua sistem di dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan pendapat Widyastuti (2002) bahwa sistem imun adalah suatu sistem pertahanan yang sangat berkembang dan melindungi tubuh dari serangan organisme, sel-sel tumor, dan zat asing yang masuk dalam tubuh.

Pada penghitungan jumlah leukosit pada kelompok P1 jumlah leukosit mengalami peningkatan, yaitu sebesar 6873 sel/mm^3 ; kelompok P2 meningkat menjadi 7627 sel/mm^3 sedangkan pada kelompok P3 8803 sel/mm^3 . Peningkatan yang berbeda ini dikarenakan pemberian filtrat sambiloto yang ukurannya berbeda.

Peningkatan jumlah leukosit yang terjadi pada kelompok P1, P2 dan P3 dikarenakan adanya pemberian filtrat sambiloto. Menurut Dalimunthe (2009) menyatakan komponen aktif dari sambiloto yaitu *andrographolide*, *14-deoxyandro-grapholide* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide* mempunyai efek imunomodulator. Kapil *et al* (1993) menambahkan bahwa *andrographoside* dan *neoandrographolide* bisa jadi kelompok glukosida yang dapat bertindak sebagai antioksidan kuat. Menurut Kumar *et al.* (2004) komponen-komponen tersebut meningkatkan proliferasi dan induksi IL-2 limfosit perifer darah manusia. Selain itu

pendapat tersebut didukung oleh Prapanza dan Marianto (2006) yang menjelaskan bahwa andrographolid yang terkandung dalam lakton, bekerja sebagai antiinflamasi dan bertindak sebagai immunostimulan. Selain mengandung senyawa *andrographolide*, *14-deoxyandro-grapholide* dan *14-deoxy-11,12-dide-hydroandrographolide*, menurut Muhlisah (2006) sambiloto juga mengandung flavonoid. Ketika aktivitas sistem imun berkurang, maka kandungan flavonoid dalam sambiloto akan mengirimkan sinyal intraseluler pada reseptor sel untuk meningkatkan aktivitasnya (Muslim, 2012). Menurut Mathivanan *et al* (2006) kandungan Flavonoid dalam sambiloto juga dapat digunakan sebagai alternatif pengganti antibiotik pada peternak ayam. Selain mengandung *andrographolide*, *14-deoxyandro-grapholide* dan *14-deoxy-11,12-dide-hydroandrographolide*. Menurut Sastrapradja *et al* (1978) sambiloto juga mengandung unsur-unsur mineral seperti kalium, kalsium, natrium dan asam kersik.

Effendi (2003) menuliskan pemberian ekstrak sambiloto dengan pelarut air pada ayam pedaging yang diinfeksi *Eimeria tenella* dapat meningkatkan sistem kekebalan dengan menghasilkan sel-sel darah putih (heterofil, eosinofil, basofil dan monosit).

Hasil penelitian Cahyaningsih *et al.* (2003) menunjukkan bahwa melalui pemberian sambiloto pada dosis bertingkat dengan koksidiostat (preparat sulfa) akan meningkatkan heterofil darah ayam. Kenaikan tersebut diduga berkaitan erat dengan fungsi ganda sambiloto sebagai immunosupresan dan immunostimulan.

Menurut wordpress (2012) Dehidroandrografolid yang terkandung dalam sambiloto dapat merangsang pelepasan hormon adrenokortikotropik (ACTH) dari kelenjar pituitari anterior yang berbeda di dalam otak dan selanjutnya akan merangsang kelenjar adrenal bagian kortek untuk memproduksi kortisol. Kortisol yang dihasilkan ini selanjutnya akan bertindak sebagai immunosupresan.

Menurut Puri *et al.* (1993) sambiloto dapat merangsang sistem imun tubuh baik berupa respons antigen spesifik maupun respons imun nonspesifik untuk kemudian menghasilkan sel fagositosis. Respons antigen spesifik yang dihasilkan akan menyebabkan diproduksinya limfosit dalam jumlah besar terutama limfosit B. Limfosit B akan menghasilkan antibodi yang merupakan plasma glikoprotein yang akan mengikat antigen dan merangsang proses fagositosis (Decker, 2000 dalam Suhirman, 2010).

Bila dosis pemberian filtrat sambiloto dinaikkan maka kemungkinan akan terjadi peningkatan jumlah leukosit hingga batas kenormalan jumlah leukosit, yaitu 10000 sel/mm³. Hal ini didukung oleh Puri *et al.* (1993) yang menyatakan bahwa selain mempunyai efek immunostimulan sambiloto juga berfungsi sebagai immunosupresan. Walaupun peningkatan dosis sambiloto aman untuk peningkatan jumlah leukosit, akan tetapi kelebihan sambiloto memberikan efek lain yang tidak baik bagi tubuh. Pendapat ini didukung oleh Muhlisah (2006) yang menuliskan bahwa beberapa orang mengalami gangguan pencernaan dan terjadinya peningkatan enzim hati sering dialami pasien penderita HIV saat diberi *andrograpole* hasil isolasi dengan dosis tinggi. Berdasarkan hasil penelitian Setyawati (2006) menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto menyebabkan cacat tulang pada mencit betina bunting, hal ini menunjukkan bahwa sambiloto tidak baik dikonsumsi ketika hamil. Dalimunthe (2006) menyatakan secara umum sambiloto tidak menimbulkan efek samping yang serius, sampai saat ini jarang ditemui efek samping yang tidak diinginkan saat sambiloto digunakan. Uji toksisitas pada hewan coba menunjukkan bahwa *andrographolide* dan senyawa lain yang terdapat pada sambiloto memiliki toksisitas yang rendah

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian filtrat sambiloto (*Andrographis paniculata*) dapat meningkatkan jumlah leukosit darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terpapar benzena dan dosis filtrat sambiloto terbaik untuk meningkatkan jumlah leukosit darah tikus putih yang terpapar benzena adalah dosis 0,45 ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Cahyaningsih UK, Setiawan, dan Ekastuti DR, 2003. Health-promoting properties of common herbs. *Am J of Clinical Nutrition* 70: 491–499.
- Dalimunthe Aminah, 2009. Interaksi Sambiloto (*Andrographis paniculata*). diakses melalui <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/3618/1/10E00504.pdf>. pada 13 Maret 2012.
- Effendi Musthofa Helmi, 2003. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus* Asal Susu Sapi Perah Penderita Mastitis. *Jurnal Penelit. Med. Eksakta*. 8(1): 39-45.

- Hirabayashi Y, Kawasaki Y, Kaneko T, Kanno J, Kodama Y, Matsushima Y, Ogawa Y, Saitoh M, Sekita K, Uchida O, Umemura T, Yoon BI, Inoue T, 2004. Benzene-induced hematopoietic neoplasms including myeloid leukemia in Trp53-deficient C57BL/6 and C3H/He mice. *Artikel Division of Cellular and Molecular Toxicology, Center for Biological Safety and Research, National Institute of Health Sciences, Tokyo 158-8501 (2009), Japan.*
- Kapil A, IB Koul, SK Banerjee, BD Gupta, 1993. Antihepatotoxic effects of major diterpenoid constituents of *Andrographis paniculata*. *Jurnal Biochem. Pharmacol.*, 46: 182-185 (1993).
- Kumar RA, Sridevi K, Kumar NV, Nanduri S, Rajagopal S, 2004. Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*. Diakses melalui <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15138014> . Pada 29 November 2012.
- Mathivanan R, Edwin SC, Amutha R, Viswanathan K, 2006. Panchagavya and *Andrographis paniculata* as Alternatives to Antibiotic Growth Promoter on Broiler Production and Carcass Characteristics. *International Journal of Poultry Science* 5 (12): 1122-1150. 2006 ISSN 1682-8356. Asian Network for Scientific Information 2006.
- Maulana Aries, 2009. Hubungan Inhalasi Benzen dengan Penurunan Kadar Hemoglobin pada Pekerja Pom Bensin di SPBU Kartasura Surakarta. *Skripsi* tidak dipublikasikan. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Muhlisah F, 2006. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Muslim Herbal, 2012. *Immunomodulator: meningkatkan sistem imun*. Diakses melalui <http://herbalmurahhati.blogspot.com/2012/05/immunomodulator-meningkatkan-sistem.html>. Pada 06 Agustus 2012.
- Prapanza Ivan, Lukito Adi Marianto, 2006. *Khasiat dan Manfaat Sambiloto*: Agromedia Pustaka.
- Pudyoko Sigit, 2010. Hubungan pajanan Benzena dengan Kadar Fenol dalam Urine dan Gangguan Sistem Hematopoietic pada Pekerja Instalasi BBM. *Tesis* tidak dipublikasikan. Semarang: Universitas Diponegoro
- Puri A, Saxena R, Saxena RP, Saxena KC, Srivastava V, Tandon JS. Immunostimulant agents from *Andrographis paniculata*. Diakses melalui <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8377022>. Pada 29 November 2012.
- .Rizky Priasmara putrid Yeshinta, 2011. Benzena di udara perkotaan. Diakses melalui <http://www.scribd.com/doc/76179383/Benzena-Di-Udara-Perkotaan>. pada 12 Maret 2012.
- Sastrapradja Setijati, Maslichah Asy'ari, Eddy djajasukma, Ernawati Kasim, Ischak Lubis, Siti Harti A L, 1978. *Tumbuhan Obat (Lembaga biologi nasional)*. Bogor: sumber data ekonomi.
- Setyawati Iriani, 2006. Perkembangan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus* L) setelah Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Artikel* penelitian. Bali: Universitas Udayana.
- Suhirman Sintha, Christina Winarti, 2010. Prospek dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai Immunomodulator. Diakses melalui <http://balittro.litbang.deptan.go.id/ind/images/stories/edsus/vol19no2/4obat.pdf>. Pada 14 Maret 2012.
- Widyawati Tri. 2007. Aspek Farmakologi sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Majalah Kedokteran Nusantara* Volume 40. No 3. September 2007.
- Wordpress, 2012. *Tanaman Penghalau Kanker*. Diakses melalui <http://kicauan.files.wordpress.com/2012/01/sambilotovsanekakanker.pdf>. pada 19 Maret 2012.
- Yusron M, M Januwati, WJ Priambodo, 2004. Keragaan mutu simplisia sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) *jurnal* pada beberapa kondisi agroekologi. Prosiding Seminar Kelompok Kerja Nasional (Pokjanas) Tanaman Obat Indo-nesia di Tawangmangu, 27-28 April 2004.